



**PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN PROTEIN DAN
LEUKOSIT PADA EFUSI PLEURA YANG DIBERI
ANTIKOAGULAN Na SITRAS 20 % DAN EDTA**

Oleh :
Suparitriono

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I (PPDS I)
BAGIAN PATOLOGI KLINIK FK UNDIP / RS DOKTER KARIADI
SEMARANG
2003**

**PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAANP PROTEIN DAN LEUKOSIT
PADA EFUSI PLEURA YANG DIBERI
ANTIKOAGULAN Na STRAS 20% DAN EDTA**

**Karya ilmiah akhir
Untuk memenuhi persyaratan
Program Pendidikan Dokter Spesialis I
Patologi Klinik**

**Pada
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

**Oleh
SUPARITRONO**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS (PPDS – 1)
PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG
2003**

Karya ilmiah akhir ini telah disetujui untuk dipertahankan dihadapan

Tim Penguji PPDS I Patologi Klinik FK UNDIP

Telah disetujui,

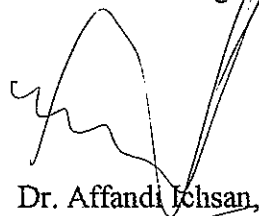
Pembimbing II



Dr. Imam Budiwiyono, Sp PK

NIP. 131 125 893

Pembimbing I



Dr. Affandi Ichsan, Sp PK (K)

NIP. 130 368 061

Ketua Bagian Patologi Klinik

FK UNDIP



Dr. Purwanto AP, SpPK

NIP. 131 252 963

Ketua PPDS I Patologi Klinik

FK UNDIP



Dr. Lisyani Suromo, Sp PK (K)

NIP. 130 354 869

DISCREPANCIES IN THE RESULTS OF EXAMINATION OF PROTEIN AND LEUKOCYTE IN PLEURAL EFFUSIONS THAT CONTAIN ANTICOAGULANTS SODIUM CITRATE 20% AND EDTA

ABSTRACT

Backgrounds: Anticoagulants that can be used in the investigation of transudate exudate are Sodium Citrate 20% or EDTA. Na Citras and EDTA have common action capture point, that is binding calcium ion. EDTA is also used in routine hematology examination because it relatively doesn't affect cellular morphology. Examination of protein and leukocyte concentration (amount and differential count) are important parameters for determining body fluid including transudate or exudate. The present study is intended to find out discrepancies in the results of parameter investigation when Sodium Citrate 20% and EDTA are used. For the uniformity of samples, we used pleural effusion.

Objectives: To find out discrepancies in the results of examination of protein and leukocyte in pleural effusions that contain anticoagulant Sodium Citrate 20% and EDTA.

Methods: We used 30 samples collected consecutively from February 2003 until early August 2003, originated from patients with pleural effusions hospitalized in internal disease wards of Dr Kariadi Hospital Semarang. The samples were obtained by toracentesis, then it were stored in 2 tubes that each contained either Sodium Citrate 20% or EDTA as anticoagulant. Examination of protein concentration was performed using Biuret method. The amount of leukocyte was calculated using Improved Neubauer counting-chamber and differential count was performed on smear preparations from samples that have been stained using Giemsa. Statistical tests were performed by differential test using paired t-test and Wilcoxon signed test.

Results: The results of protein examination with Sodium Citrate 20% as anticoagulant were higher as compared with EDTA (there were significant differences, with $p < 0,01$). The amount of leukocyte in EDTA was higher than that in Na citras (there were significant differences, with $p < 0,01$). The results of examination in differential count of mononuclear and polymorphonuclear cells in EDTA and Na citras have no significant difference ($p > 0,05$). The cellular morphology in EDTA was more intact than that in Na citras.

Conclusions: The examination of protein concentration of transudate exudate using Sodium Citrate 20% as anticoagulant has obtained higher results as compared with EDTA. The examination of leukocyte amount in EDTA has obtained higher results as compared with Sodium Citrate 20%. The results of examinations in differential count of leukocyte have showed no difference between the two, but in EDTA the blood cells were relatively more intact.

Suggestion: EDTA could become anticoagulant of choice in examinations of transudate exudate because it will give better results in leukocyte examinations as compared with Sodium Citrate 20%.

Key words: *transudate exudate, pleural effusion, EDTA, Sodium Citrate 20%, protein, leukocyte*

**PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN PROTEIN DAN LEUKOSIT PADA
EFUSI PLEURA YANG DIBERI ANTIKOAGULAN
Na SITRAS 20 % DAN EDTA**

Abstrak

Latar belakang: Antikoagulan yang dapat dipakai untuk transudat-eksudat adalah Na Sitras 20% atau EDTA. Na Sitras 20% dan EDTA mempunyai titik tangkap kerja yang sama yaitu mengikat ion kalsium. EDTA juga dipakai dalam pemeriksaan hematology rutin karena tidak mempengaruhi morfologi sel. Pemeriksaan protein dan leukosit (jumlah dan hitung jenis) merupakan parameter penting untuk menentukan suatu cairan tubuh termasuk transudat atau eksudat. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan parameter tersebut bila dipakai Na Sitras dan EDTA. Untuk keseragaman sampel dipakai efusi pleura.

Tujuan: Mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan protein dan leukosit pada efusi pleura yang diberi antikoagulan Na Sitras 20% dan EDTA.

Metoda: Dipakai 30 sampel yang diambil secara konsekutif mulai februari sampai awal agustus 2003, berasal dari pasien dengan efusi pleura yang dirawat dibangsal penyakit dalam RS Kariadi Semarang. Sampel diperoleh dengan torasentesis, kemudian ditampung dalam 2 tabung masing-masing diberi antikoagulan Na Sitras 20% dan EDTA. Pemeriksaan kadar protein ditentukan dengan metode Biuret. Jumlah leukosit dihitung dengan bilik hitung *Neubauer Improved* dan hitung jenis dilakukan pada preparat hapus dari sampel yang telah dicat dengan giemsa. Uji statistik dengan uji beda paired t – test dan Wilcoxon signed test.

Hasil: Hasil pemeriksaan protein pada Na sitras 20% lebih tinggi dibanding EDTA (terdapat perbedaan bermakna, dimana $p < 0,01$). Jumlah leukosit pada EDTA lebih tinggi dibanding Na Sitras 20% (terdapat perbedaan bermakna, dimana $p < 0,01$). Hasil pemeriksaan hitung jenis mononuklear dan polimorfonuklear pada EDTA dan Na Sitras tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Morfologi sel pada EDTA lebih utuh dibanding Na Sitras.

Kesimpulan: Pemeriksaan kadar protein transudat eksudat dengan antikoagulan Na Sitras 20% memperoleh hasil yang lebih tinggi dibanding EDTA. Hasil pemeriksaan jumlah leukosit pada EDTA lebih tinggi dibanding Na Sitras 20%. Hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit tidak menunjukkan perbedaan antara keduanya, akan tetapi pada EDTA sel-sel darah relatif lebih utuh.

Saran; Antikoagulan EDTA dapat dijadikan pilihan dalam pemeriksaan transudat eksudat karena memberikan hasil pemeriksaan leukosit yang lebih baik dibanding Na Sitras 20%.

Kata Kunci : Transudat-eksudat, efusi pleura, EDTA, Na Sitras 20%, protein, leukosit

RIWAYAT HIDUP

Nama : Suparitriono

Alamat : Jl. Kebun Agung Timur Raya No. 37

Tempat dan tanggal lahir : Semarang, 26 – Juli -1965

Agama : Kristen

Nama orang tua : SDJ Sumarno

Status perkawinan : Kawin

Nama Istri : Lilis Yulianti

Nama anak : 1. Prasetyo Utomo
2. Satrio Borneo Prakoso
3. Satrio Budi Utomo

Pangkat / golongan : III^A/Penata muda

Riwayat pendidikan : 1. Lulus SD Mangga Dua Petang Jakarta 1977
2. Lulus SMP N 64 Jakarta 1980
3. Lulus SMA N 1 Jakarta 1983
4. Lulus FK UNDIP Semarang 1993

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadapan Tuhan Yang Maha Esa, karena perkenan dan kuasaNya kami dapat menyelesaikan tulisan ini sebagai karya akhir dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran UNDIP, RS Dr. Kariadi.

Sehubungan dengan selesainya karya akhir ini, perkenankanlah kami dengan tulus hati menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada **Dr. Affandi Ichsan, SpPK (K)** selaku pembimbing, sekaligus guru kami yang dengan gigih telah memberikan bimbingan, pengarahan, semangat dan dorongan dengan bijaksana dan penuh kesabaran demi tercapainya cita-cita kami. **Dr. Imam Budiwiyo, SpPK** selaku pembimbing, dan guru kami yang dengan sabar dan bijaksana telah meluangkan waktu untuk membimbing, mendorong dan mengarahkan demi terselesainya program pendidikan ini. Disamping itu rasa terima kasih yang dalam kami sampaikan juga kepada yang terhormat :

1. **Dr. Purwanto AP, SpPK** selaku Ketua Bagian beserta semua yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini.
2. **Dr. Lisyani Suromo, SpPK (K)** selaku Ketua PPDS I Patologi Klinik yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini
3. **Dr. Sri Latijani Djamil Sp PK (K)** selaku Manajer laboratorium dan guru kami yang telah memberi bimbingan dan kesempatan untuk melakukan kegiatan selama menempuh pendidikan ini

4. Staf Pengajar PPDS I Patologi Klinik FK UNDIP, para guru kami ; **Dr. AP Pradana , SpPK (K) , Dr. Sabardiman, SpPK (K), Dr. MI Tjahjati DM, SpPK, Dr. Indranila ,SpPK, Dr Indrawati ,SpPK, Dr Herniah Asti ,SpPK** yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini . Terima kasih banyak untuk **Dr. Banundari RH, SpPK** yang juga memberi masukan tentang statistik karya ilmiah kami.
5. **Prof. Dr. Kabutrachman, SpK (K)** Dekan FK UNDIP atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan PPDS I Patologi Klinik.
6. **Dr. H Gatot Suharto, Mkes.MMR** Direktur RS Dr. Kariadi atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan PPDS I Patologi Klinik..
7. Segenap **Tim Penguji** PPDS I Patologi Klinik FK UNDIP yang telah memberi kesempatan bagi kami untuk mempertahankan karya akhir ini.
8. Seluruh **Staf Instalasi Patologi Klinik** yang telah banyak membantu, membimbing dan bekerja sama selama kami menempuh program pendidikan ini.
9. **Ayahanda dan ibunda** tercinta yang dengan tulus dan tidak ada henti-hentinya memanjatkan memanjatkan doa untuk keberhasilan dan kebahagiaan kami. Semoga Allah berkenan memberi panjang umur dan kesehatan.
10. **Penderita efusi pleura** yang dengan sukarela dan ikhlas ikut berpartisipasi dalam menyelesaikan karya akhir ini.

11. Istri dan anak-anak kami (**Pras, Neo, dan Rio**) yang banyak berkorban, yang dengan penuh kasih dan tulus mendampingi kami dalam menyelesaikan pendidikan ini.
12. Kakak dan adik saya ; **mas Tomo, mas Ang, Mbak Ning, Sugeng, Supri** yang selalu memberi dukungan.
13. Saudara-saudara kami satu angkatan (**Dr. Mimin, Dr. Enny, Dr. Esti**) yang selalu memberi semangat, saran dan kritik yang membangun. Semoga kesuksesan dan kebahagiaan memayungi langkah kita selanjutnya.
14. Teman sejawat **Residen dibagian Patologi Klinik** yang telah banyak membantu selama pendidikan.
15. Semua pihak yang tidak bisa kami sebut satu-persatu, yang turut membantu dan mendukung pendidikan kami selama ini.

Akhirnya kami menyadari bahwa karya akhir ini masih banyak kekurangannya, oleh karena itu sumbang saran dan kritik dari para guru serta pembaca lainnya akan kami terima dengan senang hati demi perbaikan di masa mendatang. Tak lupa kami mohon maaf yang sebesar-besarnya apabila selama menempuh pendidikan maupun dalam pergaulan sehari-hari ada hal-hal yang kurang berkenan. Semoga Tuhan Yang Maha Esa melimpahkan berkat dan rahmatNya kepada kita semua. Amin.

Semarang, September 2003

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ABSTRAK	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1. Latar Belakang	2
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan.....	2
1.3.1. Tujuan Umum	2
1.3.2. Tujuan Khusus.....	2
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
 BAB II . TINJAUAN PUSTAKA	 4
2.1. Rongga pleura.....	4
2.1.1. Patofisiologi Terbentuknya Cairan Pleura.....	5
2.1.2. Kriteria Transudat –Eksudat pada Efusi Pleura	8
2.2. Torasentesis/Pleurosentesis/Sampling cairan pleura	10
2.3. Penampungan dan waktu pengiriman	10
2.4. Alat.....	11
2.5. Reagen.....	11
2.6. Pemeriksa.....	11
2.7. Antikoagulan Transudat Eksudat	12

2.7.1. Natrium Sitras 20%	12
2.7.2. EDTA.....	13
2.8. Pemeriksaan Transudat Eksudat	14
2.8.1. Pemeriksaan Protein.....	15
2.8.1.1. Tes Rivalta	16
2.8.1.2. Metode Esbach.	16
2.8.1.3. Metode Biuret.....	17
2.8.2. Pemeriksaan leukosit.....	17
2.8.2.1. Hitung Jumlah Leukosit	18
2.8.2.2. Hitung Jenis Leukosit.....	18
2.9. Kerangka Teori	19
2.10. Kerangka Konsep.....	19
2.11. Variabel dan Definisi Operasional.....	20
2.12. Hipotesis.....	20
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1. Rancangan Penelitian.....	21
3.2. Ruang Lingkup Penelitian	21
3.2.1. Lingkup Bidang Penelitian	21
3.2.2. Lingkup Wilayah / Tempat.....	21
3.2.3. Lingkup Waktu	21
3.3. Populasi	21
3.4. Sampel	22
3.4.1. Kriteria Inklusi	22
3.5. Besar Sampel	22
3.6. Alur Penelitian	22
3.7. Cara Kerja.....	23
3.7.1. Pengambilan Bahan	23
3.7.2. Pemeriksaan Sampel.....	23
3.7.2.1. Pemeriksaan Protein	23
3.7.2.2. Pemeriksaan jumlah leukosit.....	24
3.7.2.3. Hitung jenis sel	25

3.8. Analisis Data.....	26
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	32
BAB VI. RINGKASAN.....	34
DAFTAR PUSTAKA	37

DAFTAR TABEL

1. Penyebab Efusi Pleura	7
2. Perbandingan Transudat Eksudat	9
3. Hasil uji beda pemeriksaan protein pada efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%	27
4. Hasil uji beda jumlah leukosit pada efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%	28
5. Hasil uji beda hitung jenis Leukosit (% MN) pada efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%	28
6. Hasil uji beda hitung jenis Leukosit (% PMN) pada efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%	29

DAFTAR GAMBAR

1. Patofisiologi terbentuknya Efusi Pleura.....	6
2. Struktur molekul Natrium Sitras	12
3. Struktur molekul EDTA	14
4. Jumlah leukosit pada efusi pleura dengan menggunakan antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%	29
5. Kadar protein pada efusi pleura dengan menggunakan antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%	30
6. Hitung jenis sel PMN dan MN pada efusi pleura dengan menggunakan Antikoagulan EDTA	31
7. Prosentase hitung jenis sel PMN dan MN pada efusi pleura dengan antikoagulan Na Sitras 20%	31

DAFTAR LAMPIRAN

1. Dokumentasi pemeriksaan leukosit pada efusi pleura
2. Data Penelitian efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Citras 205

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Bahan pemeriksaan laboratorium atau sampel amat berharga dalam menunjang tegaknya diagnosis suatu penyakit, sehingga harus ditangani dengan benar.¹ Salah satu kegiatan praanalitik yaitu pemberian antikoagulan pada sampel.

Pemeriksaan transudat-eksudat pada umumnya juga memerlukan penambahan antikoagulan supaya tidak terganggu adanya bekuan, yang terjadi karena kandungan protein khususnya fibrinogen.^{2,4} Contoh antikoagulan yang sering dipakai adalah Natrium Sitras 20% dan EDTA (*Ethylenediaminetetraaceticacid*)^{2,3,4} Keduanya mempunyai titik tangkap kerja yang sama yaitu mengikat ion Kalsium sehingga mencegah terbentuknya fibrinogen menjadi fibrin (bekuan).^{4,5}

EDTA dalam bentuk garamnya (Natrium maupun Kalium EDTA) dapat dipakai sebagai antikoagulan transudat-eksudat khususnya untuk pemeriksaan sel darah, karena relatif tidak mempengaruhi morfologi. Selain itu juga dipakai untuk pemeriksaan protein dan berat jenis.^{5,6,7}

EDTA juga biasa dipakai dalam pemeriksaan hematologi rutin, sehingga mudah didapat. Pemakaian satu jenis antikoagulan untuk beberapa pemeriksaan sekaligus akan lebih praktis dan efisien.

Secara konvensional, pemeriksaan protein dan leukosit terutama jumlah dan hitung jenis merupakan parameter penting dalam menentukan apakah cairan tubuh termasuk transudat atau eksudat. Dengan mengetahui jenis cairan tubuh, kausa dari suatu penyakit akan dapat diketahui.^{8,9,10}

Selama ini belum ada publikasi yang menyebutkan apakah ada pengaruh yang berbeda dalam hasil pemeriksaan protein dan leukosit antara Na sitras 20% dengan EDTA pada transudat-eksudat.

Salah satu contoh transudat-eksudat yaitu efusi pleura, suatu cairan patologis yang terdapat dalam rongga pleura. Sampel penelitian ini memakai efusi pleura untuk keseragaman.

1.2. PERUMUSAN MASALAH

Dari latar belakang yang ada, maka masalah yang akan dikaji adalah; apakah terdapat perbedaan antara antikoagulan Na Sitras 20% dan EDTA pada hasil pemeriksaan protein dan leukosit pada efusi pleura.

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan protein dan leukosit pada efusi pleura yang diberi antikoagulan Na Sitras 20% dan EDTA.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.2.1. Mendiskripsikan hasil pemeriksaan protein dengan menggunakan antikoagulan Na Sitras 20%.

- 1.3.2.2. Mendiskripsikan hasil pemeriksaan protein menggunakan antikoagulan EDTA.
- 1.3.2.3. Mendiskripsikan hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit (polimorfonuklear dan mononuklear) dengan menggunakan antikoagulan Na Citras 20%.
- 1.3.2.4. Mendiskripsikan hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit menggunakan EDTA.
- 1.3.2.5. Menganalisis perbedaan hasil pemeriksaan protein dan hitung jenis leukosit dengan menggunakan antikoagulan Na Citras 20 % dan EDTA.

1.4 . MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat :

Memberi informasi mengenai perbedaan hasil pemeriksaan antara penggunaan antikoagulan EDTA dan Na Citras 20% sebagai antikoagulan transudat- eksudat khususnya efusi pleura, sehingga praktisi laboratorium dapat memilih antikoagulan yang tepat sesuai jenis pemeriksaannya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. RONGGA PLEURA

Rongga pleura terletak antara paru dan dinding toraks dan dalam keadaan normal terisi oleh lapisan cairan sangat tipis. Membran serosa yang membungkus parenkim paru disebut pleura viseralis, sedangkan yang melapisi dinding toraks, diafragma dan mediastinum disebut pleura parietalis. Kedua lapisan pleura ini bersatu pada hilus paru.^{11,12,13}

Pleura visceralis terdiri dari 3 lapisan. Bagian permukaan luarnya terdiri dari selapis sel mesotelial yang tipis (tebalnya tidak lebih dari 30 μm). Di antara celah sel ini terdapat beberapa jaringan limfoid. Dibawah sel-sel mesotelial ini terdapat endopleura yang berisi fibrosit dan histiosit. Pada lapisan tengah terdapat jaringan kolagen dan serat-serat elastik. Lapisan terbawah terdapat jaringan interstitial subpleura yang sangat banyak mengandung pembuluh darah kapiler dari arteri pulmonalis dan arteri brakialis serta pembuluh getah bening. Keseluruhan jaringan pleura visceralis ini menempel kuat pada jaringan parenkim paru.^{11,12,13}

Pleura parietalis merupakan jaringan lebih tebal dan terdiri dari sel-sel mesotelial dan jaringan ikat (jaringan kolagen dan serat-serat elastik). Dalam jaringan ikat ini terdapat pembuluh kapiler dari arteri interkostalis dan arteri mamaria interna, pembuluh getah bening dan banyak reseptor saraf yang peka

terhadap rasa sakit dan perbedaan temperatur. Sistem persarafan ini berasal dari nervus interkostalis dinding dada dan aliran sesuai dengan dermatom dada. Keseluruhan jaringan pleura parietalis ini menempel dengan mudah, tapi mudah juga dilepaskan dari dinding dada di atasnya.^{11,12,13}

Dalam keadaan normal seharusnya tidak ada rongga kosong antara kedua pleura tersebut, karena terisi sedikit (10-20 cc) cairan yang merupakan lapisan tipis serosa dan selalu bergerak seara teratur. Cairan yang sedikit ini merupakan lapisan pelumas antara kedua pleura, sehingga mereka mudah bergeser satu sama lain. Jumlah cairan itu dalam keadaan normal hampir tidak dapat diukur karena sangat sedikit.^{11,12,13}

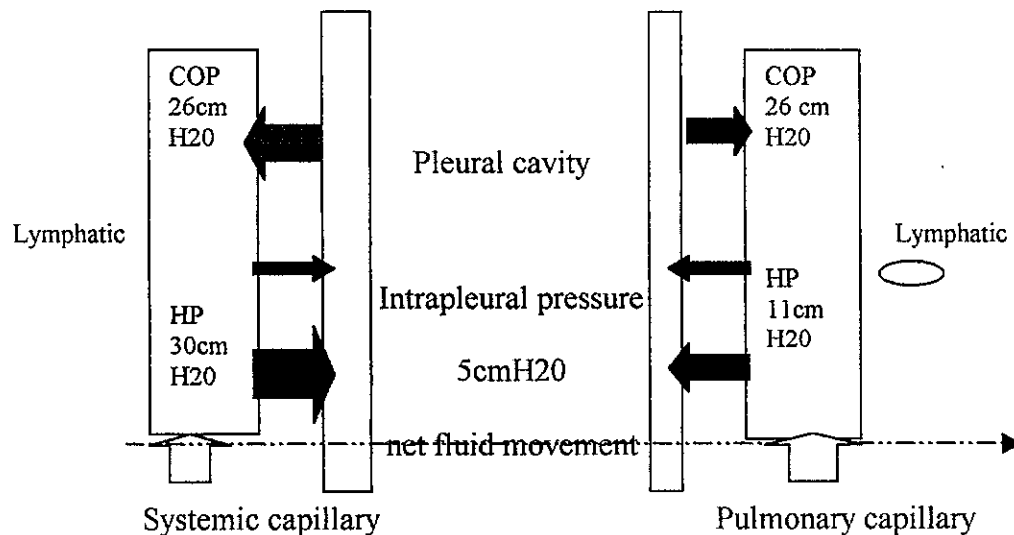
Cairan dapat masuk kedalam rongga melalui pleura parietalis dan selanjutnya keluar lagi dalam jumlah yang sama melalui membran pleura viseralis via sistem limfatik dan vaskuler. Pergerakan cairan dari pleura parietalis ke pleura viseralis dapat terjadi karena adanya perbedaan tekanan hidrostatik dan tekanan koloid osmotik. Cairan kebanyakan diabsorbsi oleh sistem limfatik dan hanya sebagian kecil yang diabsorbsi oleh sistem kapiler pulmonal. Hal yang memudahkan penyerapan cairan pada pleura viseralis adalah terdapat banyak mikrovili disekitar sel-sel mesotelial. Pleura viseralis yang melekat pada paru mempunyai kemampuan mereabsorbsi sampai 90 %, sedangkan sisanya oleh pembuluh limfe.^{14, 15, 16}

2.1.1. Patofisiologi Terbentuknya Cairan Pleura

Dalam keadaan patologis rongga antara kedua pleura dapat terisi beberapa liter cairan atau udara. Pada proses peradangan cairan yang terbentuk

sampai 100 ml/jam sehingga melewati kemampuan reabsorpsi.¹⁷ Jumlah itu bertambah pada beberapa keadaan patologis berupa transudat ataupun eksudat.

18,19



Gambar 1
Patofisiologi terbentuknya cairan efusi
dikutip dari ; Glasser L (1989)²⁰

Transudat terjadi akibat proses bukan radang yakni gangguan keseimbangan cairan tubuh (tekanan osmotik koloid, stasis dalam kapiler atau tekanan hidrostatik), sehingga biasanya mengenai kedua paru (bilateral). Eksudat berhubungan dengan suatu proses peradangan dan sering unilateral.^{16,17,18}

Secara khusus akan terbentuk suatu transudat apabila hubungan normal antar tekanan kapiler hidrostatik dan koloid osmotik terganggu, sehingga pembentukan cairan pada satu sisi pleura akan melebihi reabsorpsi oleh pleura lainnya. Biasanya hal ini terjadi pada meningkatnya tekanan kapiler sistemik, meningkatnya tekanan kapiler pulmonal, menurunnya tekanan koloid osmotik dalam pleura, menurunnya tekanan intra pleura.

Tabel 1. Penyebab efusi pleura

CAUSE	FINDING	PATHOGENESIS
<u>Transudates</u>		
Congestive heart failure	↑ HP	Systematic and pulmonary venous hypertension
Hepatic cirrhosis	↑ HP	Portal and inferior vena cava hypertension
Nephrotic syndrome	↓COP	Hipoalbuminemia
	↓COP	Hipoalbuminemia
<u>Eksudate</u>		
Prankeatitis	↑CP	Inflamation secondary in chemical injury
Bile peritonitis	↑CP	Inflamation secondary to chemical injury
Rheumatoid disease	↑CP	Inflamation of serosa
SLE	↑CP	Inflamation of serosa
Infection (bacterial, tbc, fungal, viral)	↑CP	Inflamation secondary to organism
Infarction (myocadial , pulmonary)	↑CP	Inflamation secondary to extension of process to serosal surface
Neoplasm	↑CP	Increased permeability of capillaries suplyng tumor implants; pleuritis secondary to obstructive pneumonitis
	↓LyD	Lymphatic obstruction secondary to lymph node infiltration

HP: Hydrostatic pressure; COP:colloid osmotic pressure;CP:Capilarity permeability; LyD:Lymphatic drainage

Dikutip dari : Glasser L (1989)²⁰

Pada eksudat, cairan pleura terbentuk akibat gangguan permeabilitas membran kapiler sehingga berisi protein berkonsentrasi tinggi dibandingkan protein transudat. Terjadinya perubahan permeabilitas membran ini karena adanya peradangan pada pleura. Protein yang terdapat dalam cairan pleura kebanyakan berasal dari saluran getah bening. Kegagalan aliran protein getah bening ini (misalnya pada pleuritis tuberkulosa) akan menyebabkan peningkatan

konsentrasi protein cairan pleura, sehingga menimbulkan eksudat. Etiologi terbentuknya efusi pleura dapat intra maupun ekstra pulmoner, seperti yang ditunjukkan tabel 1.

2.1.2 Kriteria Transudat – Eksudat pada Efusi Pleura

Perbedaan penggolongan efusi pleura menjadi kelompok transudat atau eksudat secara umum didasarkan beberapa kriteria, yaitu secara makroskopis, kimiawi, mikroskopis dan mikrobiologis. Pemeriksaan makroskopis meliputi warna, kejernihan, bau dan berat jenis. Pemeriksaan kimiawi terutama kadar protein dan glukosa, dan pemeriksaan mikroskopis terutama jumlah leukosit dan jenis sel.^{21,22}

Ciri-ciri transudat yaitu jernih, encer, kuning muda, tidak berbau dan berat jenis kurang dari 1,016, kadar protein kurang dari 3 g/dl, kadar glukosa kira-kira sama dengan plasma darah, jumlah sel sedikit dan bersifat steril. Ciri-ciri eksudat yaitu keruh (purulen atau mengandung darah), lebih kental, warna bervariasi, berat jenis lebih dari 1,016, kadar protein lebih dari 3 g/dl, kadar glukosa kurang dari kadar dalam plasma, banyak mengandung sel dan sering ditemukan bakteri.^{17, 18, 19}

Kriteria yang telah disebutkan diatas sering *overlapping*, misalnya hasil pemeriksaan protein menunjukkan eksudat, akan tetapi BJ cairan setara dengan transudat. Krieg (1991) mengatakan bahwa tidak ada parameter tunggal yang dapat membedakan transudat atau eksudat. Parameter penting yang diyakini paling baik sebagai penentu tipe cairan adalah pengukuran kadar protein dan LDH

(Laktat Dehidrogenase).^{4,23} Wallach J. memasukkan pemeriksaan tersebut untuk membedakan transudat-eksudat (tabel 2).

Tabel 2 . Perbandingan Transudat – Eksudat

FINDING	TRANSUDATES	EXUDATES
specific gravity	<1,016	>1,016
Protein	<3,0 g/dl	>3,0 g/dl
Pleural fluid-serum ratio	<0,5	>0,5
LDH	<200 IU	>200 IU
Pleural fluid-serum ratio	<0,6	>0,6
Ratio pleural fluid-upper limit normal serum	<2/3	>2/3
Isoenzymes not useful for differentiating		
WBC count	<1.000/mm ³	>1.000/ mm ³ ,
RBCs	mainly lymphocytes few	may be grossly purulent variable; few or may be grossly bloody
Glukosa	Equivalent to serum	May be decrease, because of bacteria or many WBCs
PH	Usually 7,4-7,5	Usually 7,35-7,45
Appearance	Clear	Usually cloudy
Color	Pale yellow	Variable

Dikutip dari ; Wallach J (1992)²⁴

Menurut Light (1972), efusi pleura eksudat harus memenuhi paling tidak 1 dari 3 kriteria sebagai berikut;²⁵

1. Protein cairan pleura dibanding protein serum >0,5.
2. Kadar LDH cairan pleura dibanding LDH serum >0,6.
3. LDH cairan pleura melebihi duapertiga dari batas atas nilai LDH serum normal.

2.2. Torasentesis / Pleurosentesis/Sampling cairan pleura

Jenis cairan rongga pleura mungkin transudat atau eksudat sehingga perlu secara tepat membedakan keduanya. Torasentesis merupakan proses pengambilan cairan (sampling) dari rongga pleura.^{25, 26} Tindakan yang juga disebut pungsi pleura ini dilakukan di linea aksilaris posterior di spasium interkostalis VIII. Penuntun ultrasonografi (*ultrasonographic guidance*) atau *CT scan* diperlukan bila jumlah cairan sangat sedikit, disamping bisa mengurangi insiden pneumotoraks setelah tindakan.^{14,25}

Torasentesis dilakukan atas indikasi terapeutik atau diagnostik. Untuk keperluan terapeutik, cairan yang diambil bisa mencapai 1500 ml atau lebih sampai pasien merasakan keluhannya berkurang. Torasentesis diagnostik memerlukan lebih sedikit cairan pleura, yaitu 50-100 ml, untuk keperluan pemeriksaan protein, glukosa, LDH, jumlah leukosit, hitung jenis, pembuatan apusan, kultur atau analisa sitologi. Khusus untuk pemeriksaan sitologi, apabila hasil ternyata negatif, maka harus diulangi dengan sampel yang diperoleh dari biopsi jarum (*needle biopsy*).^{11,25} Pengambilan sampel ini memerlukan keahlian khusus mengingat komplikasi tindakan mencapai 14%. Kemungkinan yang terjadi antara lain:^{14,26} pneumotorak, infeksi, mengenai organ terdekat terutama paru dan perdarahan. Syarat utama tindakan ini adalah bekerja steril untuk menghindari infeksi setelah tindakan sekaligus memperoleh sampel yang sesuai dengan keadaan sebenarnya

2.3 . Penampungan dan waktu pengiriman

Penampungan sampel disesuaikan jenis pemeriksaan yang dilakukan.

Selain untuk keperluan kultur, sampel yang diperoleh ditampung dalam botol atau tabung bersih dan kering dengan antikoagulan untuk mencegah terbentuknya bekuan. Untuk keperluan kultur, penampung harus steril dan tertutup rapat.^{4,6}

Sampel sebaiknya segera dikirim dalam keadaan segar (segera sesudah pengambilan). Penundaan pemeriksaan tidak diperkenankan lebih dari 8 jam karena akan menimbulkan penurunan hasil pemeriksaan protein⁶

2.4. Alat

Fotometer untuk pemeriksaan protein harus dalam keadaan siap pakai dan selalu terkalibrasi.¹

Kaca obyek dalam keadaan baru dan atau bersih sehingga diharapkan saat melakukan penghapusan diperoleh hasil yang baik (tidak terputus-putus akibat kotornya kaca obyek)^{1,4,6}

Bilik hitung Neubauer Improved dalam keadaan bersih sehingga saat penghitungan tidak terganggu oleh kotoran yang melekat.^{1,6}

2.5. Reagen

Reagen biuret tidak kadaluarsa, sehingga hasil pemeriksaan protein dapat dipercaya.^{4,6}

Untuk pengecatan dalam hitung jenis lekosit, wright giemsa selalu dibuat baru sehingga hasil pengecatan optimal (sel-sel terwarnai dengan jelas)^{4,6,27}

2.6. Pemeriksa

Pemeriksaan dilakukan oleh tenaga analis yang terlatih dan berpengalaman. Hitung jenis lekosit dilakukan secara induplo untuk menghindari kesalahan subyektifitas.^{1,4,6}

2.7. Antikoagulan Transudat-Eksudat

Transudat-eksudat khususnya eksudat mempunyai kandungan fibrinogen yang tinggi, sehingga diperlukan antikoagulan untuk mencegah terbentuknya bekuan.^{4,27} Secara umum cara kerja antikoagulan yaitu mencegah terjadinya pembekuan dengan jalan menghambat fungsi faktor pembekuan.

Antikoagulan yang biasa dipakai untuk pemeriksaan transudat eksudat adalah Natrium Sitras 20% atau EDTA.

2.7.1. Natrium Sitras

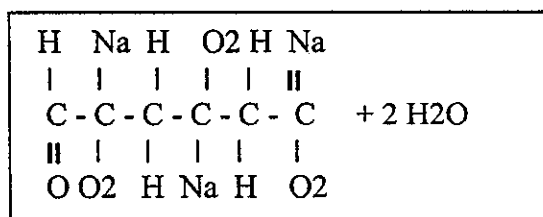
Natrium Sitras merupakan kristal atau serbuk berwarna putih yang tidak berbau dengan berat molekul 294,10. Sinonim dari Na Sitras adalah Sitrosidin ; Sitnantin ; Sitnatin ; *trisodium sitrat* ; *2 - hydroxy - 1,2,3 - propanetricorboxylic acid trisodium salt dihydrate* dan *Sodium citrat dihydrat*.^{28,29}

Bentuk serbuk pada penggunaan yang tidak hati-hati sering menimbulkan kecelakaan kerja berupa iritasi pada saluran nafas yaitu batuk atau sesak nafas. Serbuk Na Sitras juga merupakan bahan yang berpotensi mudah meledak sehingga sebaiknya disimpan di tempat yang dingin dan kering.³⁰

Na Sitras adalah suatu *chelating agent* dan merupakan senyawa hidrokarbon rantai lurus dengan formula kimia $\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.^{28,30}

Sebagai antikoagulan invitro pada umumnya digunakan dalam bentuk larutan. Pada transudat-eksudat digunakan larutan Natrium Sitras 20%. Cara pembuatannya adalah dengan melarutkan 20 g Na Sitras serbuk dalam 100 ml aquades. Untuk 2 ml cairan pleura diperlukan 0,02 ml larutan Na Sitras 20% (2 :

0,02). Gandasubrata merekomendasikan antikoagulan ini untuk pemeriksaan transudat-eksudat pada umumnya.⁴ Cara kerja antikoagulan ini adalah menghambat aktivitas faktor pembekuan dengan mengikat Kalsium menjadi kompleks Kalsium Sitras, sehingga menghambat aktifitas fibrinogen menjadi fibrin (bekuan).^{31,32,33}



Gambar 2. Struktur molekul Na Sitrat²⁸

2.7.2. EDTA

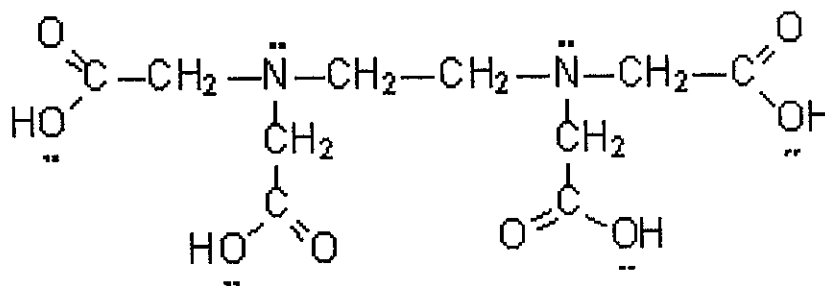
Ethylene Diamine Tetra Acetic acid (EDTA) merupakan kompleks metaloid dengan berat molekul 292 dan secara komersial dikenal sejak 1950.^{34,35}

EDTA berbentuk kristal atau serbuk warna putih yang tidak berbau dengan berat molekul 292,1. Sinonim dari EDTA adalah *Aquamollin*; *EDTA tetrasodium*; *Tetrasodium edetate* ; *Sequestrene* ; *Tryclarosol* ; *Tetrine* ; *Tetrasodium (ethylenedinitrilo) tetraacetate* ; *Versene*.^{35,36}

EDTA sebagai antikoagulan merupakan zat yang relatif aman karena tidak mudah menguap atau meledak. Dalam bentuk serbuk merupakan zat yang higroskopis sehingga penyimpanannya memerlukan tempat kering dan tertutup rapat.^{34,37} Seperti halnya Na Sitras, EDTA juga suatu *chelating agent* dan merupakan senyawa hidrokarbon rantai lurus dengan formula kimia (HOOCCH₂)₂ NCH₂CH₂N (CH₂COOH)₂^{28,35,38}

Sebagai antikoagulan invitro, pada umumnya digunakan dalam bentuk larutan. Cara kerja antikoagulan ini adalah menghambat aktivitas faktor pembekuan dengan mengikat Kalsium menjadi kompleks Kalsium EDTA $\{Ca[(HOOCCH_2)_2NCH_2CH_2N(CH_2COOH)_2]\}^{2-}$ sehingga menghambat aktifitas fibrinogen menjadi fibrin. Ikatan antara EDTA dengan ion Kalsium lebih kuat dan lebih stabil dibanding Na Sitras³⁸

EDTA dipakai dalam bentuk garam Natrium atau Kalium (Na₂EDTA atau K₂EDTA) karena lebih cepat larut. Garam-garam ini mengikat ion Kalsium menjadi bukan ion. EDTA tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuk eritrosit dan leukosit, juga mencegah trombosit bergumpal. Tiap 1 - 2 mg EDTA menghindarkan membekunya 1ml darah dan sering dipakai dalam bentuk larutan 10 % (0,1 ml untuk 10 ml sampel). Berdasarkan keunggulan EDTA dalam morfologi sel, para ahli juga memakainya untuk pemeriksaan transudat-eksudat, khususnya leukosit baik jumlah maupun hitung jenisnya.^{32,33,40}



Gambar 3. Struktur molekul EDTA³⁶

2.8. Pemeriksaan Transudat-Eksudat

Pemeriksaan cairan tubuh biasanya dimaksudkan ; pertama untuk membedakan transudat atau eksudat dan kedua menegakkan diagnosis.

Sesuai pendapat Light, pemeriksaan LDH dan protein dapat dipakai untuk membedakan transudat-eksudat. LDH terdapat pada semua sel tubuh, yaitu pada sitoplasma. Kadar tertinggi terdapat dalam otot rangka, hati, jantung, ginjal dan eritrosit.⁴¹ Kadar dalam serum akan meningkat bila terdapat kerusakan pada jaringan tubuh. Di laboratorium klinik yang sederhana, pemeriksaan LDH biasanya belum dilakukan, sehingga pemeriksaan protein menjadi hal yang penting.

Protein yang terdapat dalam cairan pleura khususnya eksudat secara umum sama dengan kandungan protein yang terdapat dalam plasma pembuluh darah, yaitu mengandung albumin, globulin dan fibrinogen. Perbandingan kadar protein cairan efusi biasanya lebih dari 0,5 dari protein total yang terdapat didalam darah, sedangkan dalam transudat kurang dari 0,5 dari protein total yang terdapat didalam darah. Pada kandungan protein yang tinggi dimana kadar fibrinogen didalamnya juga tinggi, sampel tanpa antikoagulan akan membentuk bekuan yang mengganggu pemeriksaan.²¹

Mengingat terjadinya eksudat merupakan akibat proses inflamasi, pemeriksaan jumlah dan hitung jenis sel dapat dilakukan untuk melengkapi penentuan transudat-eksudat.

2.8.1. Pemeriksaan Protein

Kadar protein dalam cairan pleura dapat dilakukan beberapa cara, yaitu metode Biuret, Rivalta dan Esbach.

Cara yang umum dilakukan yaitu metoda Biuret.^{42,43} Tes Rivalta merupakan metoda yang sederhana tetapi kasar dan bersifat kualitatif.^{4,27,42} Cara Esbach menghitung protein berdasarkan berat jenis cairan yang akan diperiksa.⁴

2.8.1.1. Tes Rivalta

Tes Rivalta merupakan metode sederhana. Dengan menggunakan reagen asam asetat glasial jenuh (1 tetes) yang diencerkan dalam aquades sebanyak 100 cc , ditetaskan cairan yang akan diperiksa. Jika saat ditetaskan cairan tersebut menunjukkan gambaran seperti kabut atau kapas berarti tes positif , sebaliknya jika tidak ada disebut negatif. Pemeriksaan ini bersifat kualitatif dan kasar.^{4,27,42}

2.8.1.2. Metode Esbach

Pemeriksaan ini dimulai dengan menetapkan berat jenis cairan. Apabila berat jenisnya ≤ 1010 , dibuat pengenceran 5 – 10 kali, sedangkan berat jenis ≥ 1010 memerlukan pengenceran 20 kali. Pemeriksaan protein menurut Esbach dilakukan berdasarkan pengenceran yang telah dibuat.

Rumus yang telah ditetapkan yaitu;

$(\text{berat jenis} - 1,007) \times 343 = \text{gram protein}/100 \text{ ml cairan}.$

Berdasarkan rumus tersebut dapat di tentukan :

- Berat jenis 1,010 sesuai dengan 1 g protein per 100 ml
- Berat jenis 1,015 sesuai dengan 2,5 g protein per 100 ml
- Berat jenis 1,020 sesuai dengan 4,5 g protein per 100 ml
- Berat jenis 1,025 sesuai dengan 6 g protein per 100 ml

Cara Esbach ini merupakan penetapan kadar protein tidak secara langsung karena berdasarkan berat jenis.

2.8.1.3. Metode Biuret

Pemeriksaan dengan metode ini bersifat kuantitatif. Pemeriksaan ini menggunakan reagen Biuret dan hasil reaksinya dibaca dengan fotometer.

Reagen Biuret terdiri dari : ⁴³

- Na OH 0,1 N
- K-Na-Tartrat 16 mmol/L
- Kalium Jodida 15 mmol/L
- Tembaga Sulfat 6 mmol/L

Prinsip pemeriksaan ini adalah adanya protein dalam cairan dengan penambahan ion tembaga dalam larutan alkalis akan menyebabkan kompleks warna (ungu). Pemeriksaan ini mudah dikerjakan dan memberikan reproduksibilitas yang baik.⁴³

2.8.2. Pemeriksaan Leukosit

Pemeriksaan sel darah khususnya leukosit merupakan penentu eksudat atau transudat, dimana pada transudat jumlah leukosit kurang dari $1.000/\text{mm}^3$, sedangkan pada eksudat lebih dari atau sama dengan $1000/\text{mm}^3$ terutama PMN.^{4,25} Berdasarkan jenis leukositnya yaitu polimorfonuklear atau mononuklear dapat membantu mencari kemungkinan penyebab terjadinya cairan patologis tersebut.^{4,}

21,41

2.8.2.1. Hitung Jumlah Leukosit

Hitung jumlah leukosit dapat dikerjakan dengan menggunakan bilik hitung *Neubauer Improved* atau *Fuch – Rosenthal* dan menggunakan larutan Na Cl 0,9 % dengan pengenceran seperti pada penghitungan jumlah sel pada LCS.^{4,33,44} Selain dengan bilik hitung dapat pula dengan digunakan *Automatic Blood Counter* tetapi hasilnya sering tinggi palsu ini diakibatkan oleh sel mesotelial, sel tumor, atau debris yang ikut terhitung.⁷

Untuk melisiskan eritrosit dapat dipakai asam asetat glasial 3 % dan untuk memberikan gambaran sel yang jelas dapat diberikan pewarnaan methilen blue.²

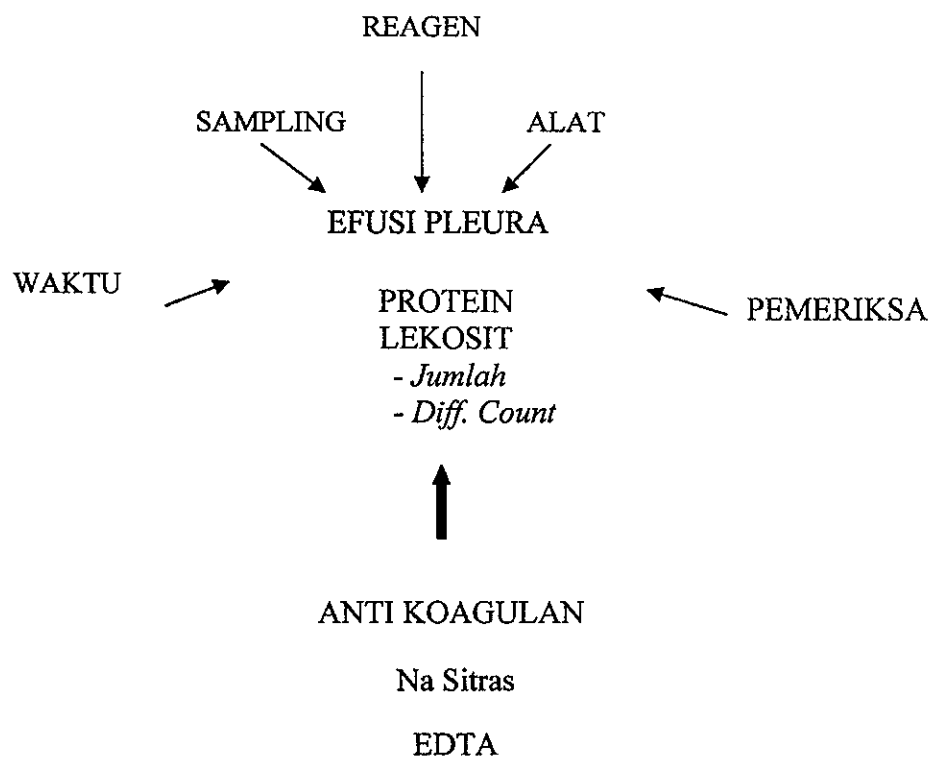
2.8.2.2. Hitung Jenis Sel

Hitung jenis sel biasanya hanya untuk membedakan dua jenis sel yaitu sel berinti satu (MN) atau limfosit dan sel polimorfonuklear (PMN) atau segmen netrofil.

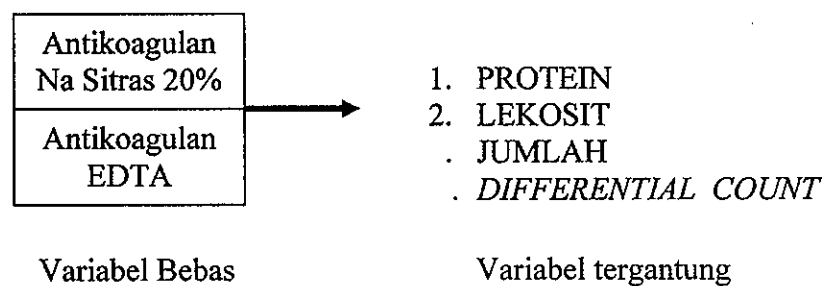
Pemeriksaan hitung jenis dilakukan preparat apus transudat-eksudat, yang dibuat dari sampel yang telah disentrifugasi. Pengecatan dapat dilakukan dengan memakai Giemsa atau Wright. Secara mikroskopik dibedakan PMN (*Polimormonuclear*) dan MN (*Mononuclear*) dari 100 – 300 sel.

Hasil hitung jenis ini dapat memberikan keterangan tentang jenis radang. Pada proses radang akut, leukosit didominasi jenis PMN dalam bentuk segmen netrofil, sedangkan radang menahun didominasi jenis MN berupa limfosit.

2.9. KERANGKA TEORI



2.10. KERANGKA KONSEP



2.11. VARIABEL DAN DEFINISI OPERASIONAL

- EDTA : *Ethylenediaminetetraacetic acid*, merupakan anti - koagulan pengikat ion kalsium yang dipergunakan 0,01 cc EDTA 10% untuk 1 cc sampel efusi pleura.
- Natrium Sitras 20% : antikoagulan pengikat ion Kalsium yang dipergunakan sebanyak 0,01 cc Na sitras 20% untuk 1 cc sampel efusi pleura
- Protein : kuantitas protein efusi pleura dalam g/dl, yang diukur dengan metode biuret menggunakan fotometer.
- Jumlah leukosit : jumlah leukosit PMN dan MN dalam efusi pleura per mm^3 yang dihitung dengan bilik hitung Neubauer Improve.
- Hitung jenis : prosentase leukosit PMN dan MN dalam 100 sel setelah jumlah leukosit terhitung, penghitungan dilakukan secara manual.

2.12. HIPOTESIS

Terdapat perbedaan antara antikoagulan Na Sitras 20% dan EDTA dalam hasil pemeriksaan protein dan leukosit pada efusi pleura.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. RANCANGAN PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif analitik dengan pendekatan belah lintang .

3.2. RUANG LINGKUP PENELITIAN

3.2.1. Lingkup Bidang Penelitian

Bidang ilmu yang diteliti adalah ilmu Patologi Klinik dengan titik berat pada cabang ekskresi – sekresi.

3.2.2. Lingkup Wilayah / Tempat

Penelitian dilakukan di Bangsal penyakit dalam dan bahan pemeriksaan yang diperoleh diperiksa di laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Kariadi Semarang .

3.2.3. Lingkup Waktu

Waktu penelitian dikerjakan dalam 6 bulan mulai Februari sampai dengan Agustus 2003

3.3. POPULASI

Populasi penelitian yaitu pasien dengan efusi pleura yang dirawat di bangsal penyakit dalam RSUP Dr. Kariadi Semarang yang memenuhi kriteria inklusi.

3.4. SAMPEL

Pengambilan sampel dilakukan secara konsekutif dari pasien dengan efusi pleura di bangsal penyakit dalam RSUP Dr. Kariadi dengan:

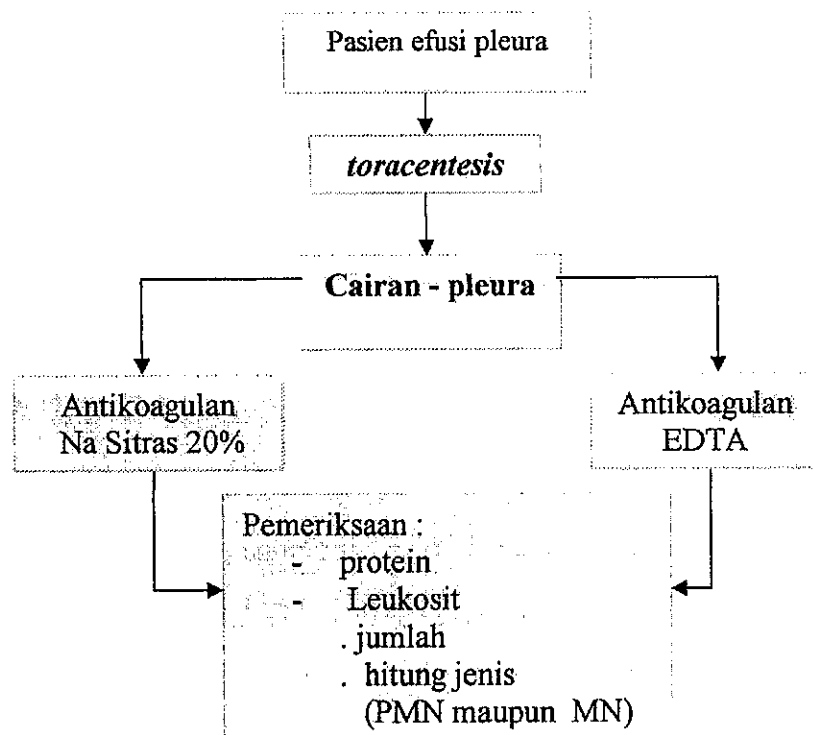
3.4.1. Kriteria inklusi

Sampel efusi pleura segar.

3.5. BESAR SAMPEL

Sampel yang digunakan sebanyak 30 buah.

3.6. ALUR PENELITIAN



3.7. CARA KERJA

3.7.1. Pengambilan bahan (*toracentesis*)

Pengambilan bahan dilakukan oleh dokter bagian Penyakit Dalam bangsal rawat inap dengan cara pungsi pleura. Daerah yang akan dilakukan pungsi yaitu spatium intercosta VIII di linea axilaris posterior terlebih dahulu didesinfeksi dengan betadin kemudian alkohol 70 %. Selanjutnya dilakukan pungsi dan aspirasi cairan dengan spuit disposibel 20 cc.^{11,27}

Untuk penelitian ini disiapkan 2 tabung. Tabung I berisi Na sitras 20 % sebanyak 0,03 ml dan tabung II berisi K2EDTA 10% 3 tetes. Masing-masing tabung diisi cairan pleura 3 ml.

3.7.2. Pemeriksaan Sampel

Meliputi pemeriksaan protein, jumlah dan hitung jenis leukosit.

3.7.2.1. Pemeriksaan Protein

Pemeriksaan protein dilakukan dengan metode Biuret dan kadarnya diukur dengan spektrofotometer.

Bahan dan alat :

- Reagen Biuret (dari Merck®)
- Spektrofotometer '4010'.
- Pipet otomatis

Cara kerja :

- Preparasi sampel; bila keruh atau kemerahan, dilakukan sentrifugasi.
- sampel diambil sebanyak 200 µl

- Reagen biuret ditambahkan sebanyak 2 cc, kemudian didiamkan selama 20-30 menit.
- Hasil reaksi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm.

3.7.2.2. Pemeriksaan jumlah leukosit

Sel yang dihitung yaitu leukosit (mononuklear dan polimorfonuklear).

Metode : manual dengan hemositometer

Bahan dan alat :

- Bilik hitung *Neubauer Improve*
- Mikroskop
- Pipet Leukosit
- NaCl 0,9 %

Cara Kerja :

- Bilik hitung diletakkan di bawah mikroskop kemudian ditutup dengan kaca penutup.
- Na Cl 0,9 % diisap sampai garis bertanda I pada pipet leukosit, lalu cairan pleura diisap sampai garis bertanda II (pengenceran ringan ; 10/9).
- Pipet dikocok hingga tercampur merata, selanjutnya dibuang 3 tetes pertama. Cairan dalam pipet diteteskan pada bilik hitung .
- Dihitung semua sel pada seluruh bidang ($0,9 \text{ mm}^3$) dengan pembesaran obyektif 10 x atau 40 x.

- Perhitungan ; jumlah sel (n) x pengenceran

$$= n/9 \times 10 \times 10/9 = \text{jumlah sel/mm}^3$$

3.7.2.3. Hitung jenis sel

Hitung jenis sel dilakukan untuk membedakan dua macam sel yaitu sel mononuklear (MN) atau limfosit dan sel polimorfonuklear (PMN) atau segmen netrofil.

Cara kerja :

- Preparasi sampel ; dilakukan sentrifugasi pada semua sampel untuk mempermudah melakukan apusan.
- Preparat apus difiksasi dengan metanol dan dicat dengan Giemsa
- Hitung jenis dilakukan sampai 100 sel.

3.8. ANALISIS DATA

Data yang ada diolah dengan perangkat lunak *SPSS PC* versi 10,0.

Uji Kolmogorov – Smirnov (K – S) dipergunakan untuk menentukan apakah distribusi data normal atau tidak. Pada pemeriksaan protein dan jumlah leukosit ternyata distribusi data tidak normal sehingga dilanjutkan dengan *uji beda Wilcoxon signed test*. Pada pemeriksaan hitung jenis leukosit didapatkan distribusi data yang normal kemudian dilakukan *uji beda paired t – test*..

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini memakai 30 sampel efusi pleura yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel tersebut terdiri atas 11 penderita laki-laki dan 19 wanita.

4.1. HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan protein dengan kedua antikoagulan menunjukkan distribusi data yang tidak normal sehingga dilanjutkan dengan uji non parametrik dengan uji *Rank Signed Wilcoxon*. Hasil dari uji ini menunjukkan adanya perbedaan pemeriksaan protein dengan menggunakan EDTA dan Na Sitras 20% ($Z = -4,180$; $p = 0,00$), dimana kadar protein dengan Na Sitras 20% lebih tinggi dibanding EDTA.

Tabel 3. Hasil uji beda pemeriksaan protein pada efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%

Pemeriksaan Protein	rerata	Simpang baku	Z	prob
EDTA	11,177	12,608	-4,180	p= 0,00
Na Sitras 20%	12,940	13,380		

Pada pemeriksaan mikroskopis antara 2 pemeriksa dengan EDTA, tidak terdapat perbedaan bermakna ($p = 0,165$), demikian pula dengan Na Sitras 20% ($p = 0,371$). Uji korelasi antara 2 pemeriksa diperoleh $r = 0,991$ untuk EDTA

dan $r = 0,997$ untuk Na Sitras 20%, sehingga disimpulkan adanya kecocokan antara 2 pemeriksa.

Hasil pemeriksaan jumlah leukosit menunjukkan adanya data yang tidak normal. Uji beda dengan *Rank Signed Wilcoxon* menunjukkan adanya perbedaan jumlah leukosit dengan menggunakan EDTA dan Na Sitras 20% ($Z=-4,104$ dan $p=0,00$), dimana pada EDTA lebih tinggi.

Tabel 4. Hasil uji beda pemeriksaan jumlah leukosit pada efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%

Pemeriksaan jumlah leukosit	rerata	Simpang baku	Z	prob
EDTA	837,267	827,795	-4,104	p= 0,00
Na Sitras 20%	750,367	910,089		

Uji normalitas data dari hasil hitung jenis MN dengan kedua antikoagulan menunjukkan data yang normal. Uji beda dengan *paired sample t-test* menunjukkan tidak ada perbedaan hasil pemeriksaan antara 2 antikoagulan ($t=0,383$ dan $p=0,704$).

Tabel 5. Hasil uji beda hitung jenis leukosit (%MN) pada efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%

Pemeriksaan jumlah leukosit	Rerata	Simpang baku	t	prob
EDTA	0,806	0,161	0,383	p= 0,704
Na Sitras 20%	0,802	0,158		

Hasil pemeriksaan hitung jenis PMN distribusi data yang normal. Dengan uji beda *paired sample t-test* diperoleh kesimpulan tidak ada perbedaan hasil

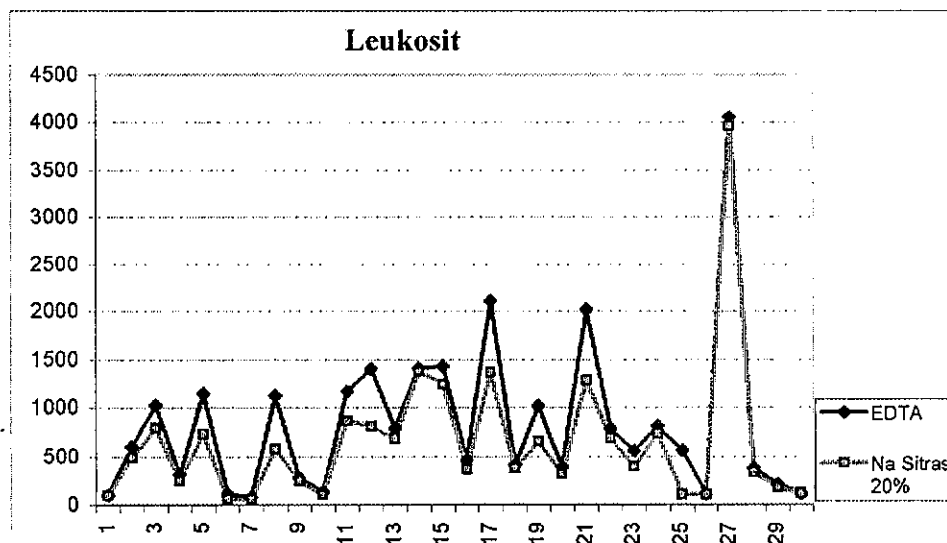
pemeriksaan PMN dengan menggunakan EDTA dan Na Sitras 20% ($t=-0,115$ dan $p=0,910$).

Tabel 6. Hasil uji beda hitung jenis leukosit (%PMN) pada efusi pleura antara antikoagulan EDTA dan Na Sitras 20%

Pemeriksaan hitung jenis leukosit	rerata	Simpang baku	t	prob
EDTA	0,194	0,161	-0,115	p= 0,910
Na Sitras 20%	0,195	0,159		

B. PEMBAHASAN

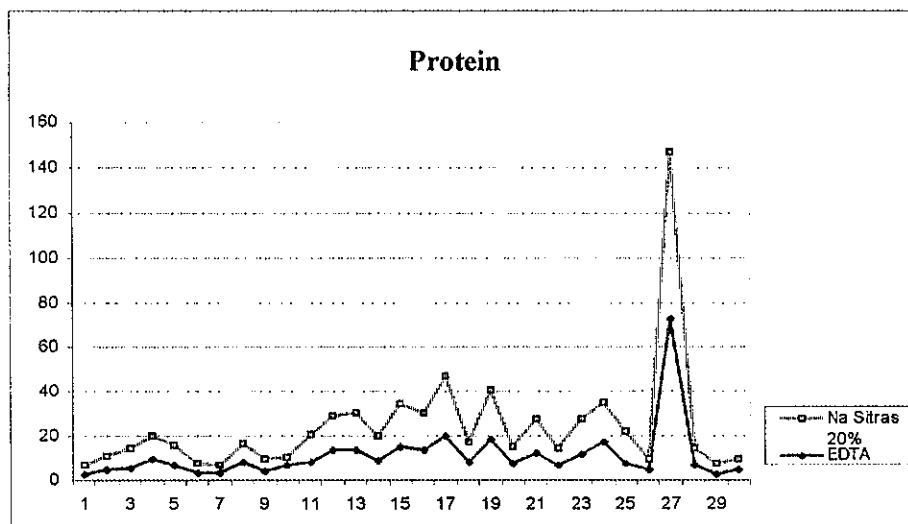
Hasil pemeriksaan jumlah leukosit dengan antikoagulan EDTA menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibanding Na Sitras 20% (Gambar 4). Hal ini mendukung teori tentang antikoagulan EDTA yang tidak mempengaruhi morfologi sel, sehingga lebih banyak sel yang terhitung (lampiran 1; foto 1 dan 3). Hasil penelitian Conner BD, dkk (2003) menyatakan bahwa jumlah leukosit pada efusi pleura dengan antikoagulan EDTA paling mendekati hasil hitung leukosit dengan *cell counter*, dibanding antikoagulan Sitras maupun Heparin.⁴⁵



Gambar 4. Jumlah leukosit pada efusi pleura dengan EDTA dan Na Sitras 20%

Rendahnya jumlah leukosit pada pemakaian antikoagulan Na Sitras 20 % kemungkinan akibat adanya sel rusak (*smudge cell*), sehingga tidak terhitung, seperti terlihat dalam bilik hitung maupun preparat apus efusi pleura (Lampiran 1; foto 2 dan 4).

Hasil pemeriksaan protein pada Na Sitras 20 % secara umum menunjukkan kadar protein yang lebih tinggi dibanding EDTA (Gambar 5).

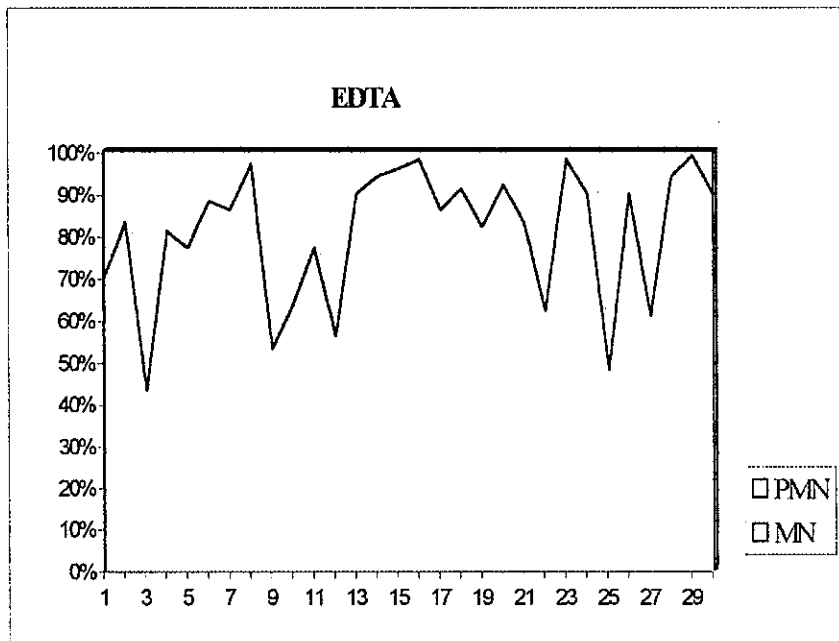


Gambar 5. Hasil pemeriksaan kadar protein dalam efusi pleura dengan EDTA dan Na Sitras 20%

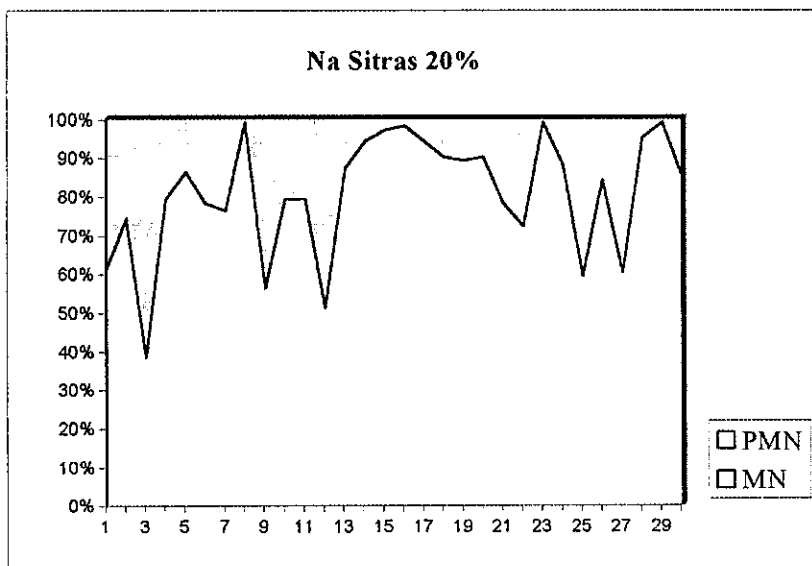
Tingginya kadar protein pada antikoagulan Na Sitras 20% ini kemungkinan besar disebabkan banyaknya jumlah sel yang rusak. Kerusakan netrofil menyebabkan peningkatan isoenzim LDH5,⁴⁶ sehingga meningkatkan kadar protein. Sebaliknya pada antikoagulan EDTA, kadar protein dapat dikatakan lebih mendekati nilai benar karena relatif tidak dijumpai kerusakan sel.

Hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit dengan antikoagulan EDTA maupun Na Sitras 20% menunjukkan dominasi sel mononuklear (MN)

sehingga bisa disimpulkan efusi pkeura pada penelitian ini disebabkan oleh inflamasi kronis (Gambar 6 dan 7).



Gambar 6. Prosentase hitung jenis sel PMN dan MN dengan antikoagulan EDTA



Gambar 7. Prosentase hitung jenis sel PMN dan MN dengan antikoagulan Na Sitras 20%

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. KESIMPULAN

- 5.1.1. Hasil pemeriksaan jumlah leukosit dalam efusi pleura dengan menggunakan antikoagulan EDTA memperoleh hasil yang lebih tinggi dibanding dengan Na Sitras 20% ($Z = -4,104$; $p = 0,00$).
- 5.1.2. Pada preparat apus efusi pleura dengan antikoagulan Na Sitras 20% ditemukan banyak sel rusak (*smudge cell*).
- 5.1.3. Hasil pemeriksaan prosentase hitung jenis MN pada efusi pleura dengan menggunakan antikoagulan Na Sitras 20% dan EDTA tidak terdapat perbedaan bermakna ($t = 0,383$; $p = 0,704$).
- 5.1.4. Hasil pemeriksaan prosentase hitung jenis PMN pada efusi pleura dengan menggunakan antikoagulan Na Sitras 20% dan EDTA tidak terdapat perbedaan bermakna ($t = -0,115$; $p = 0,910$).
- 5.1.5. Hasil pemeriksaan hitung jenis baik menggunakan antikoagulan Na Sitras 20 % maupun EDTA leukosit didominasi oleh MN.
- 5.1.6. Hasil pemeriksaan kadar protein dengan menggunakan metode Biuret pada efusi pleura dengan menggunakan antikoagulan Na Sitras 20% lebih tinggi dibanding EDTA ($Z = -4,180$; $p = 0,00$)

5.2. SARAN

Antikoagulan EDTA dapat merupakan pilihan terutama untuk pemeriksaan leukosit dan juga untuk pemeriksaan kadar protein.

BAB VI

RINGKASAN

Bahan pemeriksaan transudat-eksudat contohnya efusi pleura memerlukan penanganan dengan benar sehingga diperoleh hasil pemeriksaan yang dapat mengarahkan kediagnosis benar. Pemberian antikoagulan pada efusi pleura merupakan salah satu mata rantai yang penting dalam proses praanalitik, yaitu mencegah bekuan pada sampel sehingga pemeriksaan dapat dilakukan dengan baik.

Antikoagulan yang biasa digunakan untuk pemeriksaan transudat-eksudat adalah Na Citrat 20% dan EDTA. Keduanya mempunyai titik tangkap kerja yang sama yaitu mengikat ion Kalsium, sehingga menghambat terbentuknya fibrinogen menjadi fibrin. EDTA umumnya dipakai juga untuk pemeriksaan hematologi rutin sehingga lebih praktis dan efisien.

Pemeriksaan protein dan leukosit baik jumlah maupun hitung jenisnya merupakan parameter penting dalam penegakkan diagnosis transudat-eksudat. Secara konvensional, adanya peningkatan protein > 3 gr/dl menunjukkan bahan pemeriksaan tersebut adalah eksudat. Dalam hal jumlah leukosit, dikatakan eksudat bila lebih dari $1000/\text{mm}^3$, dan transudat kurang dari itu. Peningkatan jumlah leukosit PMN menunjukkan suatu proses yang akut, sedangkan peningkatan jumlah leukosit MN merupakan suatu proses kronis.

Penelitian ini menggunakan bahan pemeriksaan efusi pleura sejumlah 30 sampel yang terdiri atas 11 laki-laki dan 19 wanita dari bangsal penyakit dalam RS Kariadi.

Pemeriksaan protein memakai metode biuret dan hasilnya dibaca dengan fotometer pada panjang gelombang 546 nm.

Jumlah leukosit dihitung secara manual dengan bilik hitung *Neaubeaur Improved* dengan Na Cl 0,9 % dan pengenceran ringan 10/9. Hitung jenis leukosit dilakukan pada preparat apus dengan pengecatan Giemsa. Kemudian ditentukan prosentase PMN dan MN dari 100 sel yang dihitung. Pemeriksaan leukosit dilakukan secara induplo.

Hasil yang diperoleh diuji secara statistik dengan PC SPSS versi 10,0 kemudian dianalisa dan didiskripsikan. Data dengan distribusi normal diuji dengan uji beda *paired sample t-test*, dan distribusi data yang tidak normal dengan uji beda *Rank signed Wilcoxon*.

Hasil pemeriksaan jumlah leukosit menunjukkan perbedaan yang bermakna antara EDTA dengan Na Sitras 20% ($p < 0,01$), dimana EDTA lebih tinggi dari Na Sitras 20%. Morfologi sel pada bilik hitung dan preparat apus relatif lebih baik, dibanding antikoagulan Na Sitras 20% yang menunjukkan sel-sel rusak (*smudge cells*). Hal ini kemungkinan besar menjadi penyebab lebih rendahnya jumlah leukosit pada Na Sitras 20%.

Pada hasil pemeriksaan protein didapatkan perbedaan bermakna antara Na Sitras 20 % dan EDTA ($p < 0,01$), dimana Na Sitras 20% mempunyai nilai yang lebih tinggi dibanding EDTA. Kemungkinan penyebabnya adalah kerusakan sel (netrofil) menyebabkan peningkatan isoenzim LDH5, sehingga meningkatkan kadar protein.

Hasil pemeriksaan hitung jenis PMN dan MN tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara EDTA dan Na Citras 20%.

Pemeriksaan hitung jenis dari seluruh sampel menunjukkan dominasi sel MN, sehingga sebab dari efusi pleura pada penelitian ini akibat inflamasi kronis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. Nine quality control of blood and body fluid analytes. Available from : <http://www.official-document.co.uk/document/deps/doh/survey01/md/md-apb.htm> .
2. Brunzel NA. Fundamentals of urine and body fluid analysis. Philadelphia ; WB Saunders Company, 1994 : 403-11
3. Burgess LJ, Maritz FJ, Taljaraard JJ. Comparative analysis of the biochemical parameters used to distinguish between pleural transudates and exudates. Chest, 1995; 107 : 1604-9.
4. Gandasoebrata R. Penuntun laboratorium klinik. Jakarta : Dian Rakyat, 1989:159-69.
5. Lyche KD. Misselanous disease of the peritoneum and mesentery. In: Grendell JH, Quaid KR, Friedman SL, eds. Current medical diagnosis & treatment in gastroenterology. California ; Appleton & Lange, 1996: 141
6. Hoef JC. Clinical pathology. Available from : http://www.upei.ca/~diag_serv/fees.htm 12/8/2003
7. Lander F. Practical topic in lab. diagnostic. Available from: <http://www.pathguy.com/Ljump.htm>. 4/8/2003
8. Romero S, Martinez A, Hernandez L. Evaluation of different criteria for separation of pleural transudates from exudates. Chest, 1993 ; 104 ; 399 – 404

9. Panesar N.S. Preanalytical factor affecting laboratory result. Hongkong;
Dept of chemical pathology the chinese university, 1998.
10. Sherman J. Pneumonia. Available from ;
<http://www.pulmonologychannel.com/pleuraleffusion/> 13/5/2003
11. Bahar A. Penyakit-penyakit pleura edisi 4. Jakarta ; Balai penerbit FKUI,
1990;785 - 86
12. Abrahamian FM. Pleural effusion. eMedicine Journal, 2001; 2 : 30-5
Available from: <http://www.emedicine.com/EMERG/topic462.htm>.
2/8/2003
13. Price SA. Patofisiologi konsep klinik proses – proses penyakit edisi 2.
Jakarta ; EGC, 1993 : 90 – 6 , 342 – 9.
14. Hirasuna JD. Pleural disease. Available from:
<http://www.medocs.ucdavis.edu/md/420c/esyllabus/effusion.htm>.
12/4/2003
15. Fridlender ZG, Gotsman I. Pleural effusion. NEJM, 2002; 347 : 1286 – 7
16. Swami VK. Examination of body fluid. Available from :
<http://www.advanceforml.p.com/common/editorial.aspx?cc:673>.
11/4/2002
17. Hasselquist. Pleural diseases. Available from :
<http://www.gwu.edu/~gwmedos/notes/PULMONARY%20-%20pleural%20Diseases%20-%20Hasselquist.doc> . 12/4/2003

18. Vives M, Porcel JM, Vicente M, et al. A study of Light's criteria and possible modifications for distinguishing exudative from transudative pleural effusions. *Chest*, 1996 ; 109 : 1503 – 7
19. Gazquez I, Porcel JM, Vives M, et al. Comparative analysis of Light's criteria and other biochemical parameters for distinguishing transudates from exudates. *Respir. Med.*, 1998 ; 92(5) : 762 – 5.
20. Glasser L. Extravascular biological fluids. In: Kaplan SA, Pesce AJ, eds. *Clinical chemistry theory, analysis and correlation* 2nd ed. St.Louis; The CV Mosby Company, 1989 : 587 – 91.
21. Joseph J, Badrinath P, Basran GS, Sahn SA. Is pleural fluid transudates or exudates ? Are revisites of diagnostic criteria. *Thorax*, 2001 ; 56 : 867 – 70.
22. Paramothayan NS, Barron J. New criteria for the differentiation between transudates and exudates . *Journal of clin path*, 2002 ; 55 : 69 – 71
23. Light RW. Disorders of pleura, mediastinum, and diaphragm. In : Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, eds. *Harrison's principles of internal medicine* 14th ed. Vol 2 . New York ; Mc Graw Hill, 1998: 1472-6.
24. Wallach J. *Interpretation of diagnostic test*. Boston ; Little, Brown and company, 1992:130-9.
25. Jastremski S. *Torasentesis : prosedur kedaruratan*. Alih bahasa ; Hartono A. Jakarta ; EGC, 1996 : 416 – 20

26. Kjeldsberg CR, Smith GP. Cerebrospinal, synovial and serous body fluid. In : Henry JB,ed. Clinical diagnosis and management by laboratory methods 19th ed. Philadelphia ; WB Saunders Company, 1996 : 457 –79.
27. Turgeon ML. Clinical hematology theory and procedures 2nded. Boston; Little, Brown and Company, 1993 : 403-17.
28. Anonim. Sodium citrate in beilstein abstracts . Available from:
http://www.chemindustry.com/chemicals/search/S/sodium_citrate.asp
15/8/2003
29. Anonim. Sodium citrate in organic chemistry. Available from:
<http://www.yk.psu.edu/~jhb3/cotwoc.htm> . 15/8/2003
30. Baker JT. Sodium citrate. MSDS, 2003; 386: 1 – 6
31. Oleinski L.R. Specimen collection for hematology and hemostasis 2nd ed. Philadelphia ; Lippincot, 1998 : 11 - 5
32. Brown B.A.. Hematology principles and procedures. Philadelphia ; Lea & Febriges, 1984 : 8 – 9
33. Koepke JA. Guide to clinical laboratory diagnosis 2nd ed. Iowa ; ACC, 1986 :17-26
34. Sheppard RL. Determining EDTA. Analytical Chemistry, 1997; 69: 477 – 80.
35. Anonim. Edta tetrasodium in Beilstein abstracts . Available from:
http://www.chemindustry.com/chemicals/search/E/edta_tetrasodium.asp
28/8/2003

36. Anonim. Chelates agent in chemical of week. Available from:
<http://scifun.chem.wisc.edu/chemweek/chel&chlor/chel%chlor.html>.
2/9/2003
37. Anonim. More coordinate covalent compounds. Available from:
<http://www.bgsu.edu/departments/chem/faculty/endres/ch128/complexes.htm>.
2/9/2003
38. Anonim. Consult with assay lab. Available from:
<http://physiology.umc.edu/GRADPROG/core%20lab/consult.htm>.
28/8/2003
39. Anonim. General laboratory procedures . In ; Manual of basic techniques
for a health laboratory. Geneva ; WHO, 1980: 345 – 7
40. Papadeki HA. Anticoagulation : the prevention of clot. HEMA, 1998 ; 1
(1) : 33 – 40.
41. Burtis CA, Ashwod ER. Tietz fundamentals of chemical chemistry.
Philadhelphia; WB Sounders Company, 1996 : 308
42. Ravel R. Clinical laboratory medicine 4th ed. London ; Year book medical
publ., 1984: 70
43. Total Protein. Informasi produk dari Merck, 1998.
44. Sonnenwirth A.C. Gradwohl's clinical laboratory method and diagnosis.
Missouri; The C.V. Mosby, 1980 : 1372 – 3
45. Conner BD, Gary Lee YC, Branca P, et al. Variation in pleural fluid
WBC count and differential counts with different sample containers and
different methods. Chest, 2003 ; 123 : 1181-7.

46. Vergnon JM. Pleural/pericardial fluid examination. Available from ;

<http://www.repa.edu.au/pathman/pleu.alp.htm> . 20/8/2003